

KADAR SAPONIN DAUN TANAMAN YANG BERPOTENSI MENEKAN GAS METANA SECARA *IN-VITRO*

Sri Susanti dan Eko Marhaeniyanto

PS. Peternakan, Fak. Pertanian, Universitas Tribhuwana Tunggaladewi

Abstract

The research aims to identify and select of tree foliages as a feed source of protein, saponins and in lower CH₄ production in vitro. The research material are 10 tree foliages *Hibiscus rosa-sinensis*, Linn, *Eritrina lithosperma*, *Gliricidia sepium*, Jacq, *Calliandra calothyrsus*, Meissn, *Moringa oleifera*, Lamm, *Lencaena leucocephala*, *Swieteria mabagoni*, *Artrocarpus heterophyllus*, *Paraserianthes falcataria* and *Samanea saman*. Evaluation of saponin extract from the tree foliages is done by adding a saponin extract on feed control. Control diet consisted of concentrate and forage *Zea mays* with the proportion of 1:1 crude protein content of 13.3%. The design used a randomized block (RBD) with treatment: R0 = 0.5 g control diet, S1 = R0 + 0.5% saponin extract and S2 = R0 + 1% saponin extract from DM. The variables measured were (a) chemical composition (b) total gas production, (c) the production of CH₄, and (d) digestibility DM and OM (DMD and OMD) in vitro. The addition of saponin extract from tree foliages in the control diet caused a decrease in feed digestibility. The use of 1% saponin extract from *Hibiscus rosa-sinensis*, Linn, *Moringa oleifera*, Lamm, and *Paraserianthes falcataria* leaves, lowered DMD and OMD control diet by 7%. Three species *Calliandra calothyrsus*, Meissn, *Moringa oleifera*, and *Samanea saman* shows CH₄ production is less than 1%, so the potential to be used as feed ingredients protein source. The highest content of saponins found in *Paraserianthes falcataria* leaves (15.04%). Use of saponin 1% of *Hibiscus rosa-sinensis*, Linn, *Moringa oleifera* and *Paraserianthes falcataria* leaves lowered the value DMD, OMD control diet for 4,3-6,0% after 96 hours of incubation.

Key words: tree foliage, protein, saponin, CH₄ gas, in vitro

Pendahuluan

Produktivitas ternak merupakan fungsi dari beberapa faktor, diantaranya adalah faktor pakan. Di daerah tropik terbatasnya sumber pakan yang berkualitas masih merupakan kendala utama sehingga produktivitas ternak umumnya masih jauh lebih rendah dibanding potensi genetik yang ada. Akibat keterbatasan sumber pakan yang berkualitas, memerlukan suplementasi nutrisi, terutama pakan sumber protein sehingga diharapkan dapat meningkatkan produktivitas. Permasalahannya, pencernaan pakan sumber protein biasanya terhambat oleh

adanya proses lignifikasi pada dinding sel tanaman dan hadirnya senyawa sekunder seperti saponin yang dimiliki tanaman pohon. Kondisi ini akan berpengaruh terhadap pencernaan bahan organik dan pola produk akhir fermentasi pakan oleh mikroba rumen (VFA, NH₃, gas total dan metana). Secara konseptual protein pakan yang terdegradasi di dalam rumen merupakan sebuah proses yang kurang bermanfaat karena dari proses tersebut akan menghasilkan amonia dalam konsentrasi tinggi (Min *et al.*, 2000). Walaupun amonia bermanfaat untuk sintesis protein mikroba dan sebagian diserap melalui dinding rumen,

ketersediaan yang terlampau tinggi akan diekskresikan melalui urine. Guna mengatasi masalah ini suatu strategi dikembangkan untuk meningkatkan efisiensi pemanfaatan protein pakan salah satunya dengan cara menggunakan senyawa saponin yang banyak dijumpai pada daun beberapa tanaman pohon (Wina dan Tangendjaja, 2000; Makkar, 2003; Suhartati, 2005).

Saponin dari daun tanaman dilaporkan mampu meningkatkan efisiensi proses fermentasi melalui mekanisme penurunan populasi protozoa di dalam rumen yaitu dengan menurunkan sifat predator protozoa terhadap bakteri (Wang *et al.*, 2000). Menurunnya populasi protozoa di dalam rumen mengakibatkan semakin tinggi populasi bakteri dan semakin kecil *turnover* protein di dalam rumen sehingga jumlah protein mikroba yang masuk ke duodenum meningkat (Hess *et al.*, 2004). Namun demikian pengaruh defaunasi dari saponin di dalam rumen tidak selalu stabil. Sebagai contoh, penelitian yang dilakukan oleh Leng *et al.* (1992) melaporkan bahwa penurunan populasi protozoa hanya terjadi selama beberapa hari pemberian pakan. Saponin bersifat toksik terhadap protozoa dan bakteri dalam rumen, dan 9-25% dari metanogen bersimbiosis dengan cara menempel pada permukaan protozoa (Santoso dan Hariadi, 2007). Penurunan populasi protozoa dalam rumen diharapkan akan diikuti dengan penurunan gas metana (CH₄).

Masih diperlukan penelitian secara mendalam tentang mekanisme kerja senyawa saponin dalam mempengaruhi proses fermentasi pakan di dalam rumen khususnya dalam mengurangi produksi gas CH₄. Pengujian beberapa daun tanaman menjadi informasi penting dalam upaya mengurangi produksi gas CH₄ dan pengembangan peternakan yang berkelanjutan. Tujuan penelitian adalah (1) Identifikasi dan memilih daun tanaman yang potensial sebagai pakan sumber

protein, sumber saponin dan menghasilkan produksi gas CH₄ rendah secara *in-vitro*, (2) Menghasilkan ekstrak saponin dari tanaman pohon yang potensial sebagai pakan ternak, serta menguji pengaruh penggunaan ekstrak saponin terhadap efisiensi proses fermentasi secara *in-vitro*. Dari penelitian ini diharapkan memberikan informasi ilmiah tentang kandungan saponin daun tanaman yang berpotensi menekan gas metana sebagai dasar strategi suplementasi pakan dalam meningkatkan produktivitas ternak potong.

Bahan dan Metoda

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang. Proses ekstraksi dilaksanakan di Laboratorium Kimia FMIPA Universitas Brawijaya Malang, sedangkan untuk menganalisis hasil ekstrak dilakukan di Laboratorium Balai Penelitian Ternak Ciawi Bogor.

Materi penelitian berupa 10 jenis daun tanaman, yaitu:

1. bunga sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis*, Linn)
2. dadap (*Eritrina lithosperma*)
3. gamal (*Gliricidia sepium*, Jacq)
4. kaliandra (*Calliandra calothyrsus*, Meissn)
5. kelor (*Moringa oleifera*, Lamm)
6. lamtoro (*Leucaena leucocephala*)
7. mahoni (*Svieteria mahagoni*)
8. nangka (*Artrocarpus heterophyllus*)
9. sengon (*Paraserianthes falcataria*)
10. trembesi (*Samanea saman*)

Pemilihan daun tanaman sebagai pakan ternak berdasarkan survei pendahuluan di Lumajang dan studi literatur (Soetanto *et al.*, 2010). Daun diambil dari bagian ranting tanaman sebanyak ±5 kg segar, tidak memisahkan antara daun yang muda dan tua. Daun tanaman diambil saat musim kemarau dari daerah di sekitar Tlogomas, Dinoyo, Malang. Sampel daun tanaman dicacah dengan ukuran ±3 cm,

berat ± 2000 g, dikeringkan dalam oven suhu 60°C selama 48 jam. Sampel selanjutnya digiling menggunakan *Willey mill* dengan ukuran giling 0,75 mm untuk analisis komposisi nutrisi.

Metode *in-vitro* yang digunakan adalah teknik yang dikembangkan oleh Makkar *et al.* (1997). Pakan basal dari ternak donor cairan rumen terdiri dari rumput gajah (*Pennisetum purpureum c.v. King*) PK 9%, dan konsentrat (susu PAP) PK 18% dengan proporsi 1:1. Rancangan yang digunakan rancangan acak kelompok (RAK) terdiri dari 10 macam daun tanaman sebagai perlakuan, masing-masing diulang 3 kali. Variabel yang diukur adalah: (a) kandungan nutrisi: bahan kering (BK), bahan organik (BO), protein kasar (PK), serat kasar (SK), lemak kasar (LK), *neutral detergent fiber* (NDF) dan *acid detergent fiber* (ADF) (b) produksi gas yang dihasilkan pada inkubasi 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 24, 48, 72 dan 96 jam, (c) produksi gas CH_4 yang diukur pada 12 dan 24 jam.

Untuk mengidentifikasi daun tanaman yang potensial sebagai sumber saponin didahului dengan melakukan uji kualitatif saponin untuk menguji ada tidaknya hemolisis eritrosit. Peralatan yang digunakan dalam uji kualitatif saponin terhadap tingkat hemolisis eritrosit, terdiri dari gilingan berdiameter 0,5 mm, oven, pemusing Hettich EBA, tabung pemusing, rak tabung pemusing, tabung *vacutainer* yang telah berisi sodium heparin, jarum *venoject* no 20 dan 21, spuit 5 ml, spectrophotometer merk spectronic 20, pipet mikro dengan kapasitas 200-1000 μl , gelas ukur 10 ml dan 50 ml dan kaca pengaduk. Bahan yang digunakan adalah larutan NaCl 0,9%, sodium heparin, aquades, kapas dan alkohol 70%.

Persiapan ekstrak tanaman dilakukan menurut Lemmich *et al.* (1995). Daun yang telah kering dan digiling sebanyak 1 g dimasukkan dalam tabung pemusing ditambah dengan 10 ml NaCl 0,9%, kemudian dipusingkan dengan 3000 rpm

selama 15 menit. Setelah dipusingkan dibiarkan semalam pada suhu kamar ($25-30^{\circ}\text{C}$). Supernatan yang dihasilkan digunakan untuk dilihat pengaruhnya terhadap tingkat hemolisis darah domba.

Pengenceran ekstrak tanaman dilakukan dengan mengambil 1 ml ekstrak awal (1/10 w/v) kemudian ditambahkan 1 ml NaCl 0,9% (disebut pengenceran 1). Pengenceran 2 dilakukan dengan mengambil 1 ml ekstrak pada pengenceran 1 lalu ditambahkan 1 ml NaCl 0,9%. Pengenceran 3 dilakukan dengan mengambil 1 ml ekstrak pada pengenceran 2 lalu ditambahkan 1 ml NaCl 0,9%. Demikian seterusnya sampai tingkat pengenceran ke 10.

Persiapan eritrosit dilakukan menurut petunjuk Lemmich *et al.* (1995). Darah domba diambil melalui vena jugularis dan ditampung dalam tabung *venoject* yang berisi heparin (antikoagulan). Sebanyak 10 ml darah dipusingkan pada 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan berupa plasma darah dibuang dan endapan (eritrosit) dicuci dengan larutan NaCl 0,9% kemudian dipusingkan 3000 rpm selama 15 menit (langkah ini diulang 3 kali), lalu dibuat larutan eritrosit 3% dalam NaCl 0,9%.

Pembuatan standar dilakukan dengan mengambil sebanyak 0,2 ml eritrosit, ditambahkan 1 ml NaCl 0,9% dan 1 ml aquades, selanjutnya dipusingkan pada 3000 rpm 15 menit dan dibaca di spectrophotometer pada λ 540 nm. Absorbansinya dipakai sebagai standar. Uji kualitatif dilakukan dengan mencampur 1 ml NaCl 0,9%, 0,2 ml eritrosit dan 1 ml ekstrak tanaman, selanjutnya dipusingkan pada 3000 rpm selama 15 menit. Apabila hasilnya bercampur berarti terjadi hemolisis dan apabila hasilnya tidak bercampur (terdapat supernatan dan endapan) berarti tidak terjadi hemolisis. Absorbansinya dibaca pada spectrophotometer dengan λ 540 nm. Hasil pengujian mampu melisis eritrosit darah, menunjukkan potensi

memiliki kandungan saponin. Dari hasil pengujian kualitatif terhadap kandungan saponin dipilih beberapa tanaman berdasarkan nilai rasio absorbansi sampel tanaman dengan absorbansi standar (terjadi lisis pada eritrosit) tertinggi, untuk diekstrak saponin dan akan dipergunakan sebagai materi penelitian.

Evaluasi penggunaan ekstrak saponin dari daun tanaman dilakukan dengan cara menambahkan ekstrak saponin pada pakan kontrol. Pakan kontrol terdiri dari konsentrat (susu PAP) dan hijauan jagung (*Zea mays*) dengan proporsi 1:1, kandungan PK 13,32%. Rancangan yang digunakan rancangan acak kelompok (RAK) dengan perlakuan: R0 = 0,5 g substrat basal, tanpa ekstrak saponin; S1 = R0 + 0,5% ekstrak saponin; dan S2 = R0 + 1% ekstrak saponin dari BK. Masing-masing perlakuan diulang 3 kali. Variabel yang diukur adalah: Kecernaan BK dan BO (KcBK dan KcBO) secara *in-vitro*.

Data komposisi nutrien, kandungan saponin, produksi gas kumulatif, produksi gas CH₄ dianalisis diskriptif. Data KcBK dan KcBO dianalisis statistik menggunakan sidik ragam. Apabila terdapat perbedaan yang nyata (P<0,05)

atau sangat nyata (P<0,01) dilanjutkan uji Beda Nyata Jujur sesuai Gomez dan Gomez (1995).

Hasil dan Pembahasan

Komposisi kimia dan produksi gas secara in-vitro dari daun tanaman

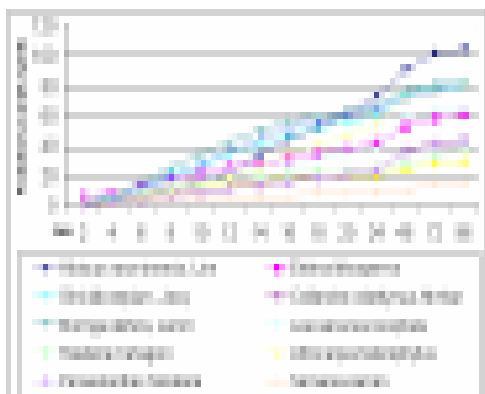
Komponen nutrien yang memiliki nilai ekonomi paling tinggi adalah PK. Perbedaan komposisi kimia dapat disebabkan kondisi tempat tumbuh (tanah), musim serta umur saat pemanenan. Sebagian besar dari daun tanaman yang diteliti memiliki kandungan PK tinggi (lebih dari 18%) kecuali mahoni, sehingga berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai pakan suplemen dalam meningkatkan kualitas ransum ternak ruminansia. Daun mahoni mengandung PK kurang dari 18% sehingga tidak dimanfaatkan sebagai pakan suplemen sumber protein. Tanaman pohon kelompok leguminosa (termasuk gamal, kaliandra dan lamtoro) mempunyai kemampuan mengikat N₂ bebas dari udara dan mengubahnya menjadi bentuk N yang tersedia karena bersimbiose dengan bakteri *Rhizobium*.

Tabel 1. Kandungan BK, BO, PK, SK, LK, BETN, NDF dan ADF dari 10 jenis daun tanaman

Nama daun tanaman	BK %	BO* %	PK* %	SK* %	LK* %	BETN* %	NDF* %	ADF* %
Bunga Sepatu	17,63	85,77	24,23	15,87	5,85	39,82	50,74	40,67
Dadap	22,79	88,86	29,01	25,39	3,25	31,22	50,71	33,39
Gamal	21,09	90,72	26,91	20,98	3,97	38,86	38,33	25,85
Kaliandra	35,67	93,70	23,67	19,50	4,13	46,60	34,49	31,65
Kelor	18,43	87,05	36,55	10,82	5,79	24,11	16,11	12,70
Lamtoro	24,17	91,36	27,85	21,51	4,22	37,79	40,59	27,37
Mahoni	37,08	88,76	10,90	22,86	2,97	52,02	32,56	32,44
Nangka	25,05	90,43	19,23	26,00	2,03	43,16	46,36	46,08
Sengon	31,82	93,66	22,04	22,37	3,66	45,60	43,00	39,75
Trembesi	41,26	96,24	23,26	37,94	5,41	29,63	52,27	43,14

Keterangan: BK = bahan kering, BO = bahan organik, PK = protein kasar, SK = serat kasar, LK = lemak kasar, BETN = bahan ekstrak tanpa nitrogen, NDF = *neutral detergent fibre*, ADF = *acid detergent fibre*.

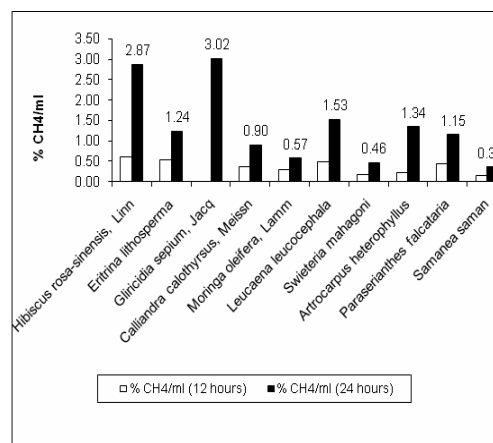
*) Berdasarkan 100% BK, analisis di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang.



Gambar 1. Produksi gas ($\text{ml } 0.5 \text{ g}^{-1} \text{ BK}$) substrat daun tanaman pada beberapa waktu inkubasi

Suplementasi menggunakan daun tanaman diharapkan mampu meningkatkan produktivitas ternak ruminansia melalui suplai nitrogen dan asam amino, baik pada mikroba rumen maupun pada ternak secara langsung melalui proses absorpsi pascarumen di usus halus, dan juga untuk menurunkan kandungan metana dalam proses fermentasi di rumen (Bach *et al.*, 2005).

Produksi gas merupakan suatu pencerminan dari jumlah substrat yang terfermentasi. Pengukuran produksi gas secara periodik selama 96 jam dilakukan untuk mengetahui seberapa besar gas yang dihasilkan pada waktu-waktu tertentu. Produksi gas tertinggi selama 96 jam waktu inkubasi (Gambar 1) dihasilkan oleh daun bunga sepatu sebanyak 104,60 ml diikuti oleh kelor 83,73 ml; gamal 80,57 ml; dan angka 80,23 ml. Produksi gas terendah dihasilkan oleh trembesi yaitu 16,23 ml. Ini menunjukkan bahwa tanaman bunga sepatu, kelor, gamal dan angka merupakan hijauan yang memiliki fraksi tidak larut dalam rumen namun potensial terdegradasi dalam rumen sehingga tanaman pohon tersebut berpotensi untuk digunakan sebagai bahan pakan



Gambar 2. Kadar CH_4 (%) per ml produksi gas pada waktu pengamatan 12 dan 24 jam dari 10 jenis daun tanaman secara *in-vitro*.

pemasok energi yang cukup besar. Menkee dan Steingass (1988) menyatakan bahwa produksi gas yang dihasilkan merupakan hasil proses fermentasi yang terjadi di dalam rumen dan dapat menggambarkan banyaknya BO yang dapat dicerna oleh mikroba rumen. Produksi gas yang dihasilkan pada dasarnya merupakan refleksi dari banyaknya energi yang dihasilkan dari proses fermentasi. Tingginya produksi gas pada daun tanaman seiring dengan meningkatnya kandungan BO. Menurut Makkar *et al.* (1995) BO yang difermentasi tidak selalu menghasilkan gas, karena bila hasil fermentasi digunakan untuk sintesis protein mikroba maka produksi gas akan berkurang. Pada penelitian ini, fermentasi BO oleh mikroba dalam rumen menjadi VFA diikuti produksi gas sebagai hasil samping. Produksi gas ini sangat erat kaitannya dengan produksi VFA, bahwa semakin besar BO pakan yang dikonversi menjadi VFA maka gas yang dihasilkan juga semakin besar (Makkar *et al.*, 1995).

Produksi gas metana *in-vitro* diekspresikan dalam persentase metana dalam total gas setelah 12 dan 24 jam

waktu inkubasi dari masing-masing daun tanaman disajikan pada Gambar 2. Persentase gas CH₄ yang dihasilkan 10 daun tanaman pada inkubasi 24 jam berkisar 0,15-3,02%/ml dari gas total. Persentase gas CH₄ >2%/ml dari gas total pada inkubasi 24 jam, berturut-turut dihasilkan oleh daun bunga sepatu dan gamal. Persentase gas CH₄ antara 1-2%/ml dari gas total pada inkubasi 24 jam berturut-turut dihasilkan oleh daun dadap, lamtoro, nangka dan sengon. Persentase gas CH₄ < 1%/ml gas total pada inkubasi 24 jam berturut-turut dihasilkan daun tanaman kaliandra, kelor, mahoni dan trembesi. Daun mahoni tidak disarankan sebagai pakan suplemen karena kandungan PK kurang dari 18%, meskipun produksi gas CH₄ yang dihasilkan rendah. Proses fermentasi pakan di dalam retikulo-rumen

menghasilkan VFA (asam asetat, asam propionat dan asam butirat), CO₂, CH₄. Hasil fermentasi VFA tersebut segera dimetabolisasi oleh mikroba yang berakhir dengan pembebasan hidrogen dan bahan reduksi. Sebagian bahan reduksi tersebut digunakan oleh bakteri melalui reduksi CO₂ menjadi CH₄ melalui reaksi $4\text{H}_2 + \text{CO}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$

Uji kualitatif saponin

Uji kualitatif saponin pada 10 jenis daun tanaman didasarkan pada hasil ekstraksi menggunakan aquades. Kandungan saponin secara kualitatif (menggunakan metode hemolisis) pada beberapa jenis daun tanaman diketahui dari nilai rasio absorbansi ekstrak tanaman dengan absorbansi standar (disebut tingkat hemolisis).

Tabel 2. Tingkat hemolisis eritrosit domba akibat penambahan ekstrak dari 10 daun tanaman

Daun tanaman	Tingkat pengenceran dan nilai absorbansi dibaca pada spectrophotometer dengan λ 540 nm.						
	0	1	2	3	4	5	6
Bunga Sepatu	0,453	0,231	0,124	0,074	0,021	0,003	
Dadap	0,294	0,143	0,071	0,032			
Gamal	0,210	0,101	0,034	0,013	0,006		
Kaliandra	0,111	0,062	0,023	0,010			
Kelor	0,273	0,124	0,018				
Lamtoro	0,312	0,181	0,073	0,031			
Mahoni	0,113	0,079	0,031				
Nangka	0,143	0,062	0,030	0,011			
Sengon	0,578	0,369	0,217	0,106	0,053	0,021	0,002
Trembesi	0,153	0,065	0,021	0,010			

Keterangan: Nilai absorbansi yang terbaca menunjukkan hemolisis eritrosit domba.

Tabel 2 menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun tanaman yang diuji menyebabkan eritrosit domba menjadi lisis, aras ekstrak saponin beberapa jenis tanaman yang digunakan tersebut (100 mg/ml NaCl) belum menyebabkan terjadinya hemolisis

sempurna (rasio absorbansi < 1). Terjadinya hemolisis ini karena sifat aktif saponin pada eritrosit. Saponin mampu berikatan dengan *fosfolipida* yang menyusun membran eritrosit sehingga mengganggu permeabilitas dinding sel. Ikatan saponin dengan *fosfolipida* (terjadi

pada 3β -hidroksisteroid) membentuk molekul kompleks yang sulit untuk dipisahkan. Terbentuknya molekul kompleks saponin dan fosfolipida menyebabkan terganggunya organisasi di dalam sel karena pelepasan ikatan antara kolesterol dengan fosfolipida dalam membran sel (Jayanegara *et al.*, 2010).

Hasil pengamatan makroskopis terhadap hasil ekstrak terhadap daun tanaman menggunakan aquadest sebagai berikut:

Berbusa dan : daun bunga
lengket kuat sepatu
Berbusa, sedikit : daun kelor
lengket
Berbusa, tidak : daun gamal,
lengket lamtoro, nangka
Tidak berbusa, : daun dadap,
tidak lengket kaliandra,
mahoni, sengon,
trembesi

Pada tingkat pengenceran 5 hemolisis terjadi pada daun bunga sepatu. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan kandungan saponin pada beberapa jenis tanaman yang diteliti jika dilihat dari respon hemolisis yang ditimbulkan. Beberapa tanaman yang diuji pada penelitian ini selanjutnya dilakukan ekstraksi untuk mendapatkan ekstrak saponin. Dilihat dari tingkat pengenceran yang dilakukan (Tabel 2) ternyata sampai tingkat pengenceran 6, hemolisis masih terjadi pada penggunaan ekstrak tanaman daun sengon. Hasil uji hemolisis terhadap tanaman yang diduga sebagai sumber saponin pada Tabel 2 masih perlu pembuktian lebih lanjut menggunakan uji kuantitatif.

Nilai pencernaan in-vitro penggunaan ekstrak saponin dari daun tanaman

Proses ekstraksi saponin dari sampel daun tanaman potensial sebagai pakan ternak menghasilkan *crude extract* saponin yang selanjutnya dianalisis di Laboratorium Balai Penelitian Ternak di Ciawi Bogor dengan hasil sebagaimana disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Kadar saponin 10 jenis daun tanaman

Nama daun tanaman	% ekstrak saponin dari BK	TS %
Bunga Sepatu	12,77	5,89
Dadap	7,12	3,42
Gamal	9,96	8,23
Kaliandra	9,13	8,33
Kelor	14,92	7,19
Lamtoro	8,12	4,54
Mahoni	6,16	4,31
Nangka	7,82	5,79
Sengon	6,13	15,04
Trembesi	9,81	3,98

Keterangan: % ekstrak BK = (g ekstrak *freeze drying*/ g BK daun tanaman), TS = total saponin. Hasil analisis Laboratorium Balai Penelitian Ternak Ciawi Bogor (2011).

Tabel 3 menunjukkan bahwa kadar senyawa saponin bervariasi antara 3,42-15,04% BK. Kusmartono (2008) menyatakan bahwa saponin banyak dijumpai pada hijauan berkualitas tinggi seperti leguminosa dan keberadaan tanin bebas yang aktif dalam bahan pakan akan menentukan cita rasa yang pahit (Makkar, 2003).

Tabel 4. Nilai KcBK dan KcBO *in-vitro* pada inkubasi 96 jam dari penggunaan ekstrak saponin

Ekstrak dari daun tanaman	Nilai KcBK <i>in-vitro</i> (%)			Nilai KcBO <i>in-vitro</i> (%)		
	R0	S1	S2	R0	S1	S2
Bunga Sepatu	76,7 ^b ±2,17	74,9 ^a ±0,85	71,3 ^a ±0,78	77,6 ^b ±2,52	75,4 ^b ±0,80	71,6 ^a ±0,83
Dadap	76,7 ^b ±2,17	74,5 ^a ±0,20	74,4 ^a ±0,13	77,6 ^b ±2,52	75,7 ^a ±0,16	74,9 ^a ±0,72
Gamal	76,7 ^b ±2,17	74,7 ^a ±0,35	73,6 ^a ±0,55	77,6 ^b ±2,52	75,3 ^a ±1,80	74,0 ^a ±1,28
Kaliandra	76,7 ^b ±2,17	73,5 ^a ±0,13	72,8 ^a ±0,41	77,6 ^b ±2,52	74,2 ^a ±1,22	74,1 ^a ±0,41
Kelor	76,7 ^b ±2,17	71,9 ^a ±1,74	71,2 ^a ±0,44	77,6 ^b ±2,52	73,9 ^a ±1,61	73,3 ^a ±0,64
Lamtoro	76,7 ^b ±2,17	74,6 ^a ±0,35	73,6 ^a ±0,23	77,6 ^b ±2,52	75,5 ^a ±1,32	74,6 ^a ±1,21
Mahoni	76,7 ^b ±2,17	74,8 ^a ±0,92	74,3 ^a ±0,92	77,6 ^b ±2,52	75,4 ^a ±1,00	74,7 ^a ±1,48
Nangka	76,7 ^b ±2,17	75,2 ^a ±0,73	74,7 ^a ±0,82	77,6 ^b ±2,52	75,6 ^b ±0,62	74,4 ^a ±0,52
Sengon	76,7 ^b ±2,17	73,5 ^a ±0,36	72,3 ^a ±0,63	77,6 ^b ±2,52	74,1 ^a ±0,35	72,9 ^a ±1,14
Trembesi	76,7 ^b ±2,17	74,1 ^a ±1,45	73,8 ^a ±0,30	77,6 ^b ±2,52	75,3 ^a ±1,77	74,4 ^a ±0,43

Ket: Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$)

Dari hasil pengujian penambahan ekstrak saponin dari beberapa daun tanaman hingga 1% (Tabel 4) tampak pola penurunan yang nyata ($P < 0,05$) pada nilai KcBK dan KcBO inkubasi 96 jam secara *in-vitro*. Hal ini dimungkinkan adanya sifat toksik dari saponin terhadap protozoa dan bakteri dalam rumen (Santoso dan Hariadi, 2007). Penambahan ekstrak saponin dari 0,5% BK menjadi 1% BK pada pakan kontrol mampu menurunkan KcBK dan KcBO tertinggi pada bunga sepatu masing-masing 5% dan 4% ($P > 0,05$). Dilaporkan bahwa penggunaan ekstrak saponin berdampak terhadap penurunan populasi protozoa, namun dampak terhadap KcBK dan KcBO tidak selalu nyata (Goel *et al.*, 2008; Wina *et al.*, 2006).

Penggunaan ekstrak saponin sebanyak 1% dari daun bunga sepatu, kelor dan sengon menyebabkan penurunan nilai KcBK dan KcBO pakan kontrol sebesar 4,3-6,0%. Pada daun kelor waktu inkubasi 24 jam menghasilkan persentase gas CH₄ kurang dari 1%/ml gas total. Keberadaan saponin pada daun kelor diharapkan dapat mengurangi proses degradasi pakan berlebihan di dalam rumen.

Efek biologis utama dari saponin adalah kemampuannya berinteraksi dengan membran sel dan isi sel sehingga dapat menghemolisa sel darah merah termasuk kemampuannya untuk melisiskan sel-sel protozoa dan bakteri dalam rumen. Efek saponin yang utama adalah mengurangi populasi protozoa, namun dalam penelitian ini tidak dilakukan pengukuran populasi protozoa. Beberapa metanogen bersimbiosis dengan protozoa, karena protozoa dapat berperan sebagai donor H₂, meskipun efek pada metanogen tidak selalu berkorelasi dengan efek pada protozoa (Jayanegara *et al.*, 2010). Berkurangnya populasi protozoa mengakibatkan ketersediaan H₂ untuk metanogen berkurang, sehingga populasi metanogen berkurang dan produksi gas CH₄ menurun. Menurunnya populasi protozoa di dalam rumen mengakibatkan semakin tingginya populasi bakteri dan semakin kecilnya *turnover* protein di dalam rumen sehingga jumlah protein mikroba yang masuk ke duodenum meningkat (Hess *et al.*, 2004). Laporan terdahulu menunjukkan bahwa pengaruh defaunasi dari saponin di dalam rumen tidak selalu stabil. Leng *et al.* (1992) melaporkan bahwa penurunan populasi protozoa hanya terjadi selama beberapa

hari pemberian pakan. Saponin bersifat toksik terhadap protozoa dan bakteri dalam rumen, sementara sekitar 9-25% dari metanogen bersimbiosis dengan cara menempel pada permukaan protozoa (Santoso dan Hariadi, 2007). Dengan demikian penurunan populasi protozoa dalam rumen diharapkan akan diikuti dengan penurunan gas metana secara *in-vitro*.

Kesimpulan

1. Kandungan saponin tertinggi terdapat pada daun sengon (15,04%). Penggunaan saponin 1% dari daun bunga sepatu, kelor dan sengon menurunkan nilai KcBK, KcBO pakan kontrol sebesar 4,3-6,0% setelah inkubasi 96 jam.
2. Tidak semua daun tanaman dengan kandungan protein kasar tinggi dapat diharapkan sebagai sumber suplemen protein, hanya kaliandra, kelor dan trembesi yang menunjukkan produksi gas CH₄ kurang dari 1% sehingga berpotensi untuk digunakan sebagai bahan pakan pemasok sumber protein.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih disampaikan kepada DP2M Dikti serta seluruh Kepala dan Staf Laboratorium. Terima kasih juga disampaikan kepada Rektor, Dekan Fakultas Pertanian dan Ketua LPPM serta Sdr. Firmus Vulton dan Siprianus Watu, mahasiswa PS. Peternakan Unitri.

Daftar Pustaka

- Bach A, Calsamiglia. S., and Stern M. D. 2005. Nitrogen metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 88: E9-E21., from [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-5194\(05\)00222-5/references](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-5194(05)00222-5/references) [Diakses 9 Mei 2009]
- Goel, G., Makkar, H.P.S., and Becker, K. 2008. Effects of *Sesbania sesban* and *Carduus pycnocephalus* leaves and Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seeds and their extracts on partitioning of nutrients from roughage- and concentrate-based feeds to methane. *Animal Feed Science and Technology* 147: 72-78
- Gomez, A.K. dan Gomez T.T. 1995. *Prosedur Statistik untuk Penelitian Pertanian*. UI Press. Jakarta.
- Hess, H. D., R. A. Beuret, M. Lötscher, I. K. Hindrichsen, A. Machmüller, J. E. Carulla, C. E. Lascano and M. Kreuzer. 2004. Ruminant fermentation, methanogenesis and nitrogen utilization of sheep receiving tropical grass hay-concentrate diets offered with *Sapindus saponaria* fruits and *Cratylia argentea* foliage. *Anim. Sci.* 79:177-189.
- Jayanegara, A., Goel, G., Makkar, H.P.S., and Becker, K. 2010. Reduction in methane emissions from ruminants by plant secondary metabolites: Effects of Polyphenols and Saponins. In: Odongo N E, Garcia M and Viljoen G J (eds), *Sustainable Improvement of Animal Production and Health*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, pp. 151-157 from anuragaja.staff.ipb.ac.id/.../Jayanegara_2010_SLAPH-FAO_tannin-saponin-CH4.pdf - [Diakses pada 11 Agustus 2009]
- Kusmartono. 2008. Konden tanin pada beberapa daun leguminosa pohon dan perannya dalam pakan ternak kambing. *Jurnal Ilmu Peternakan Brawijaya*. Volume 18 No. 1 Hal 51-62.
- Lemmich, E., Cornet, C., Furu, P., Jorstian, C. L., Knudsen, A. D., Olsen, C. E., Salihs, A and Thiilborg, S.T. 1995. Molluscicidal Saponins from *Catunageram Nilotica*, *J. Phytochemistry* 39, 1.
- Leng, R.A., Birds, S.H., Klieve, A., Choo, B.S., Ball, F.M., Asafa, G., Brumby, P., Mudgal, V.D., Chaudhry, U.B., Haryono, S.U. and Hendratno, N. 1992. The potential for tree forage supplements to manipulate rumen protozoa to enhance protein to energy ratios in ruminants fed on poor quality forages. Dalam Speedy, A. dan Lugliese, P.L. *Legume tress and other*

- fodder tress as protein sources for livestock, FAO Animal production and health 102. Rome.
- Makkar, H.P.S, M. Blümmel and K. Becker. 1995. Formation of Complexes Between Polyvinyl Pyrrolidone or Polyethylene Glycol and Tannins and Their Implication in Gas Production and True Digestibility in *In-vitro* Techniques, British Journal of Nutrition 73: 897-913
- Makkar, H.P.S, M. Blümmel and K. Becker. 1997. Application of an *In-vitro* Gas Method to Understand the Effect of Natural Plant Products on Availability and Partitioning of Nutrients. Institute for Animal Production in the Tropics and Suctropic, univ. of Stutgarat, Germany.
- Makkar, H.P.S. 2003. Quantification of Tannin in the Tree and Shrub Legumes; A Laboratory Manual. Kluwer Academic Publishers, Dorrecht, The Netherlands.
- Menkee, K.H. and Steingass, H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in-vitro gas production using rumen fluid. Anim.Res.Develop.28:7-55
- Min, B.R., W.C. McNabb, T.N. Barry and J.S. Peters. 2000. Solubilization and degradation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase / oxygenase (EC 4.1.1.39; Rubisco) protein from white clover (*Trifolium repens*) and *Lotus corniculatus* by rumen microorganisms and the effect of condensed tannins on these processes. J. Agric. Sci. (Camb.) 134: 305–317.
- Santoso, B dan B.Tj. Hariadi. 2007. Pengaruh Suplementasi *Acacia mangium* Will pada *Pennisetum purpureum* terhadap Karakteristik Fermentasi dan Produksi Gas metana *in-vitro*. Jurnal Media Peternakan. Agustus Vol 30 No. 2 : 106-113.
- Soetanto,H., Chuzaemi, S., and Marhaeniyanto, E. 2010. Performance of Growing Goats with and without supplementation of Moringa leaves at Pasrujambe Village, Regency of Lumajang, East Java. Oral Presenter In International Seminar on Prospects and Challenges of Animal Production in Developing Countries in the 21st Century. 23-25 March 2010. Widyaloka Brawijaya University Malang.
- Suhartati, F.M. 2005. Protein lamtoro leaves (*Leucaena leucocephala*) with tannin, saponin and oil protection and the effect on ruminal undegradable dietary protein (RUDP) and synthesis of rumen microbial protein. Animal Production (Universitas Jenderal Soedirman, Indonesia) 7: 52-58.
- Wang, Y., T. A. McAllister, L. J. Yanke, Z. J. Xu, P. R. Cheeke and K. J. Cheng. 2000. *In-vitro* effects of steroidal saponins from *Yucca schidigera* extract on rumen microbes. J. Appl. Microbiol. 88:887-896.
- Wina, E. and B. Tangendjaja. 2000. The utilization of Calliandra calothyrsus as a forage for ruminant in Indonesia. Proceeding of a symposium on Seed production and utilization of Calliandra. ICRAF. Bogor - Indonesia. 14-16 Nov 2000. pp. 13-20.
- Wina, E., Muetzel, S., and Becker, K. 2006. Effects of daily and interval feeding of Sapindus rarak saponins on protozoa, rumen fermentation and digestibility in sheep. Asian Australian Journal of Animal Science 19:1580-1587.